



TITLE:

資料:1 霊長類肝シトクロムP450アイソザイム(MALDO及びMALCO)の精製とその性質の解析(III 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

山本, 郁男; 松永, 民秀; 小村, 晶子; 岩脇, 康之; 岸, 信行; 渡辺, 和人

CITATION:

山本, 郁男 ...[et al]. 資料:1 霊長類肝シトクロムP450アイソザイム(MALDO及びMALCO)の精製とその性質の解析(III 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 1994, 24: 92-93

ISSUE DATE:

1994-11-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/164522>

RIGHT:

「椅子として腰掛けて冷湿を回避する」「倒木をここで動かす」「木や壁の上の目標物に投げつける」「社会的な目隠し遊び」。

本群の他個体で観察された道具使用行動そのものは、1歳代ではまだ見られない。しかし、当該の道具使用行動の構成要素である定位的操作の一部は、1歳代から出現する（例；木の棒を水の中に入れてかき混ぜる）。今回は、2歳児を観察対象として得られていないが、3歳児では道具使用行動が6タイプ出現しており（「水をすくう」、「他者を威嚇したり、他者の注意を喚起する」など）、定位的操作の種類も増加することがわかった。さらに、5歳になると、本群で示される道具使用行動の大半が出現する。同時に、定位的操作には、3歳、4歳では見られない「対象物どうしの定位」「複数の物の定位」「定位した後の継起的な調整的行動」が加わり、この時期の道具使用行動の多様化の基礎条件を提供すると考えられた。

自由：46

ニホンザルのテレメーターによる行動パターンの解析ならびに野生ニホンザルの生理的データをテレメーターを利用して得られる可能性について

東 英生（哺乳類研究所準備室）

前年度に引続き、霊長類研究所で飼育管理されているニホンザルに、米国ATS社製首輪型サーモセンサー外付けテレメーターを装着した。首輪の発信部分の内側に皮温を測定するためのセンサー部分を隆起させた。また、発信機本体の外側すなわち皮温センサーの反対側にもサーモセンサーをつけ、装着個体の首の下の気温を測定した。同時に、このとき装着個体のいる場所の温度を測定した。

装着個体のいる場所の気温（外気温とした）と装着個体の首の下方すなわち装着個体のまわりの温度（環境温とした）、装着個体のテレメーターの内側で測定された温度（皮温）の3つの温度の測定値を毎時間、3日間連続で記録した。前年度の調査結果を立証するために、今年度は実験条件を変え、前年度と同様の測定を行った。

①夏期の調査を実施し、高温に対する皮温の変化を測定することにより、高温への対応を解明する方向を探る。

②放飼場の群れの中の個体に装着した場合の群れ効果による対応と、個体としての対応を比較する。（前年度は室内にある個別ケージにおいて実施したため、室内温度がコントロールされていた）

したがって、今年度は単独あるいはペアで飼育されているニホンザルにサーモセンサー付テレメーターを装着し、調査を行った。また、テレメーターのパルス間隔（温度によって変化する）を測定するために毎時間調査者がスイッチを操作していたが、自動的にスイッチが入り、数分間の記録をとった上でスイッチが切れるシステムを導入した。現在データの解析中であり、詳細に関しては機会をみて公表する予定である。

今回の調査結果をいままでの結果と合わせて分析することによって、フィールドでのニホンザルの外気温の高低に対する適応性についての調査を実行する段階にきたと考えられる。今後は、実際にフィールドにおいて利用できるような応用と、外科的処置を必要としないバイオテレメトリーの試行、調査の実施に展開する計画である。

C. 資料提供

資料：1

霊長類肝シトクロムP450アイソザイム（MALDO及びMALCO）の精製とその性質の解析

山本郁男・松永民秀・小村晶子・
岩協康之・岸 信行・渡辺和人
（北陸大・薬）

我々は、肝ミクロソーム中にアルデヒドあるいは水酸基が各々対応するカルボン酸あるいはケトン体へ酸素添加反応により酸化される反応を触媒する酵素を見だし、それぞれ microsomal aldehyde oxygenase (MALDO) 及び microsomal alcohol oxygenase (MALCO) と命名した。これらはいずれもP450が関与していることを明らかにしている。昨年度の共同研究において、9-anthraldehyde (9-AA) の酸化活性を指標とし、雄アカゲザル肝ミクロソームよりP450 (RM-A) を精製した。今回、その性質並びにミクロソームでの触媒活性への寄与について引

き続き検討した。その結果、RM-AはN-末端アミノ酸配列より2A subfamilyに属する新規のP450であることが明らかとなったが、肝ミクロソームの活性がその抗体で阻害されなかったことから、他の分子種の関与が示唆された。そこでさらに精製を行い、雌アカゲザル及び雌雄ニホンザルより計5種のP450（いずれも分子量51 kD）を精製した。これらの9-AA酸化活性は、10～20 nmol/min/nmol P450であった。なお、雌ニホンザルより精製したP450（JM-C、免疫学的検討から2B subfamilyのP450と推定）は、再構成系のリン脂質の組成を変えることにより約40 nmol/min/nmol P450とミクロソームの20倍以上高い活性を示した。さらに、サル肝の9-AA MALDO活性が抗JM-C抗体で一部阻害されたことから、このP450はその主要な分子種の一つであることが示唆された。しかし、大麻成分tetrahydrocannabinol (THC)の活性中間体11-oxo- Δ 8-THCに対するJM-Cの酸化活性は全く認められなかった。一方、サル肝の7 α -及び7 β -OH- Δ 8-THCのMALCO活性は、齧歯類と同様7 α -OH体より7 β -OH体を基質とした方が約2倍高かった。また、MALCOの主要な酵素としてモルモット肝ミクロソームから精製したP450 GPF-B（3A subfamilyと推定）の抗体によりサル肝のMALCO活性も顕著に阻害されたことから、このsubfamilyに属するP450により触媒されていることが示唆された。

資料：2

高度不飽和脂肪酸の輸送機構と加齢によるその変化

藤本健四郎・金沢文子（東北大学・農学部）

高度不飽和脂肪酸は生体膜の構成成分として重要であり、胎仔期後期および新生仔期の脳神経系や肝臓での著しい蓄積が観察される。胎仔期と新生仔期における高度不飽和脂肪酸の輸送には、脂肪酸結合蛋白のひとつである α -フェトプロテイン（AFP）が重要な役割を持ち、AFPが高濃度に存在する時期には多価不飽和脂肪酸の取り込みが活発であると思われる。本研究は、脂肪酸の輸送機構および臓器での脂質代謝への年齢の影響を明らかにすることを目的とするものであるが、平

成5年度は高度不飽和脂肪酸取り込みの指標のひとつとして多価不飽和脂肪酸の活性化について検討した。

新生仔期のニホンザル1とカニクイザル2、成熟期のニホンザル3とアカゲザル1の肝臓ホモジネートを調整し、ATP、MgCl₂、CoA、放射標識した高度不飽和脂肪酸を含む緩衝液中で反応させた。Doleの試薬を加え、未反応の遊離脂肪酸を除去した後、水層に残存した放射活性を測定することによりアシルCoA生成量を求めた。リノール酸を基質とした時のアシルCoA生成量は、成熟期の動物より新生仔期の動物で低い値を示したが、リノレン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸を基質とした場合には新生仔と成熟動物との明確な差を認めなかった。

われわれは既に、ラットの肝臓と大脳皮質を用いた実験により、高度不飽和脂肪酸を基質とした場合の長鎖アシルCoAシンセターゼの活性が成長に従って変化することを明らかにしている。ラット大脳皮質では脳形成が活発な時期に高度不飽和脂肪酸活性化の昇進が認められ、肝臓では、生後0～10日にかけてアシルCoA生成量が著しく増加し、成熟期にかけてわずかに減少する。マカカ属サルの場合には新生仔と成熟動物での差が小さく、出生時にはラットの場合より成熟した段階に達していると思われた。

資料：3

霊長類の感染症

金城俊夫（岐阜大・農）

我々は先に、飼育ニホンザル糞便からの病原性エルシニアの分離成績を報告したが、今回その対照として野生ニホンザルについて同様の分離を試みた。野生ザルは有害鳥獣として岐阜県下農村で捕獲された81頭である。

糞便からのエルシニアの分離は、常法に従って行い、エルシニアを疑う集落については生化学的性状検査による種の同定と更に血清型別を行った。

尚、病原性エルシニアの早期診断法として、PCR法の応用を試みた。使用したプライマーは、Nakajimaらの設計に従い、病原性のY.enterocolitica (Y.e.)及びY.pseudotuberculosis (Y.p.)の両者のプラスミド上に存在するvirF遺伝子、Y.e.の染色体上に存在するail遺伝子、Y.p.の染色体